

以 Amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相在 HPLC 上分離多環芳香烴

廖麗芳¹ 楊朝成² 張書文¹ 吳忠誠¹ 林振興^{1*}

¹ 輔英科技大學應用化學及材料科學系

² 嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所

摘 要

本研究製備 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相的目的，在於分離多環芳香烴。以 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相在 HPLC 上，對一些多環芳香烴的分離及滯留行為的探討。在移動相中，乙腈與水比例為 55:45 時，可以有效分離 7 種多環芳香烴。由層析結果顯示，鍵結靜相與分析物之間的疏水性作用力以及 π - π 作用力，在滯留機轉上，扮演重要的角色。

關鍵詞：高效液相層析；多環芳香烴；s-三口井環

*通訊作者：輔英科技大學應用化學及材料科學系

Tel: +886-7-7811151ext5511

Fax: +886-7-7826732

E-mail: sc030@mail.fy.edu.tw

壹、前言

多環芳香烴(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) 又稱多環芳香族碳氫化合物，分子結構是由不含雜環的芳香環所組成，例如苯、蔥及芘等。多環芳香烴可在煤、原油及天然氣的處理過程中形成，也可由有機物質在高溫時，不完全燃燒的情況下產生 [1]。而日常生活中，車輛排放的廢氣，抽煙或燒烤肉類產生的煙霧也含有多環芳香烴 [1]。多環芳香烴於環境中無處不在，空氣、土壤、水和食物等都含有多環芳香烴。目前，已知有超過百種以上的多環芳香烴污染物存在於環境中 [1]。因多環芳香烴是非極性或極性低的分子，所以不容易代謝，經過專家研究，不少多環芳香烴已被界定為致癌物。臨床實驗報告指出：若長期接觸高濃度多環芳香烴，會引起皮膚癌、肺癌、胃癌及肝癌等疾病。多環芳香烴可以破壞體內的遺傳物質，引發癌細胞增長，增加癌病的發病率 [2]。

氣相層析法與高效液相層析法，可以用來檢測

多環芳香烴污染物 [3, 4]，但當某些多環芳香烴沸點高到無法氣化時，傳統氣相層析法則不適合檢測此類的分析物 [3]，此時改採用高效液相層析法檢測分析物 [4, 7-9]。在高效液相層析法，某些靜相管柱雖可分離多環芳香烴，但效果不佳 [10]。從文獻資料得知 RP-C₁₈ 靜相管柱對多環芳香烴的分離效果很好 [5, 6, 10-12]；台大林敬二教授與楊美惠教授研究團隊製備了許多含 s-triazine 環的靜相管柱，對某些芳香族化合物或對掌異構物的分離，皆可以提高分離效果 [13-18]。因此，本研究嘗試自製 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相管柱，在移動相中改變乙腈與水的比例，分離 7 種常見的多環芳香烴污染物。從層析分離的結果評估 amine-s-triazine-C₁₈ 靜相管柱，對多環芳香烴的分離效果；並探討移動相中乙腈與水的比例對這些受測溶質分離的影響。



貳、材料及方法

一、化學藥品

三聚氰化氰(cyanuric chloride)、乙腈(acetonitrile)、碳酸鈉(sodium carbonate)及碳酸氫鈉(sodium bicarbonate)為德國 Merck 試藥級產品。APS (3-aminopropyltriethoxysilane)及正十八烷胺(n-octadecylamine)採用美國 sigma 試藥級產品。甲苯(toluene)、丙酮(acetone)及甲醇(methanol),係使用美國 Mallinckrodt LC 級產品。矽膠是西德 Machery Nagel 出產 Nucleosil 產品牌矽膠,為規則性球形,顆粒大小 10 μm 。表面積 350 m^2/g ,孔徑 10 nm。苯(benzene)、萘(naphthalene)、芴(fluorene)、菲(phenanthrene)、蔥(anthracene)、芘(pyrene)及 1,2-苯并蔥(1,2-benzanthracene)等分析物,購置於各試藥級產品。水為蒸餾去離子之二次水。

二、儀器設備及管柱填充

高效液相層析儀使用 HITACHI 廠牌之 L-7100 型溶劑輸送系統、SPECTROFLOW 480 型注入器、L-7420 型 UV-VIS 吸收偵測器及個人電腦組合而成。圖 2 與圖 3 的層析條件為偵測器之波長設定在 254 nm;流速控制在 1.5 mL/min。分析物溶解於甲醇溶劑,並取適當量進入注入器以收集層析資料。管柱填充方法是取 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相填充物約 3 g,分散於甲苯、正己醇、四氯乙烯配製而成的漿液(slurry)中,以超音波振盪使它均勻分散,並以甲醇為溶劑(solvent)流析,充填 amine-s-triazine C₁₈ 鍵結靜相填充物於不鏽鋼管柱(30 cm×4 mm)中。

三、Amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相填充物之製備

本研究參考文獻資料[5, 6]之 RP-C₁₈ 鍵結靜相製備方法,自製 Amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相填充物。鍵結靜相填充物之製備步驟敘述如下:

(一) 三聚氰化氰之單取代正十八烷胺

將 0.01 mole 的碳酸鈉溶於含 50 mL 水的燒杯中,並將 0.01 mole 正十八烷胺溶於 100 mL 熱丙酮溶液,再倒入反應瓶後,冷卻至 0°C。另將 0.01 mole 的三聚氰化氰溶於含 50 mL 丙酮中,倒入上

述攪拌的反應瓶水溶液中,溫度控制在 0°C 左右,反應進行 1 小時後,過濾,再用水沖洗多次後,以 P₄O₁₀ 減壓乾燥。

(二) 矽化矽膠

取約 3 g 矽膠於 180°C 高爐中,烘乾 10 小時後,待其冷卻後,放入含 120ml 甲苯溶液的反應瓶中。此時將溫度升高到 110°C 迴流 20 分鐘後,注入矽烷耦合劑(APS) 3ml,反應 12 小時後,回復到室溫,過濾之,並分別用甲苯、丙酮及甲醇沖洗,過濾且抽乾後,在 60°C 下減壓乾燥。

(三) amine-s-triazine- C₁₈ 鍵結靜相填充物

取 0.01 mole 的三聚氰化氰之正十八烷胺衍生物,置於內含 150 mL 甲苯反應瓶中攪拌,加入 3 g 矽化矽膠及 0.84 g NaHCO₃ 於上述攪拌水溶液中,溫度控制在 60 °C 左右,反應進行 24 小時後過濾之,以甲苯沖洗多次後,再用丙酮、甲醇及水沖洗多次,過濾抽乾後,在 60 °C 下減壓乾燥。

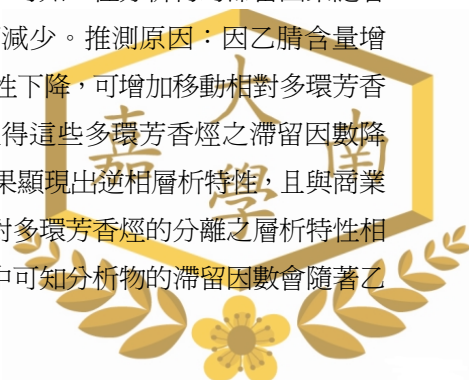
參、結果與討論

一、amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相的結構

許多含 s-triazine 的鍵結靜相,已陸續成功地製備出來,且可以有效分離芳香族化合物或對掌異構物[13-18]。本研究參考文獻資料[5,6]之 RP-C₁₈ 鍵結靜相製備方法,自製 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相填充物,並從分離分析物的層析結果,可以確認自製的 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相已成功地製備出來。圖 1 所示為 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相的合成步驟及可能的結構。

二、移動相中乙腈含量的影響

本研究以乙腈與水不同比例 (45:55 至 60:40)的混合溶液當移動相,利用自製鍵結靜相管柱分離 7 種多環芳香烴,所得到的層析結果如圖 2 所示。從圖 2 中,可知 7 種分析物的滯留因素隨著乙腈含量增加而減少。推測原因:因乙腈含量增加,則移動相極性下降,可增加移動相對多環芳香烴的溶解度,使得這些多環芳香烴之滯留因數降低。此種層析結果顯現出逆相層析特性,且與商業用 RP-C₁₈ 管柱對多環芳香烴的分離之層析特性相似[10]。從圖 2 中可知分析物的滯留因數會隨著乙



腈含量增加而減少，但沖提次序不隨著乙腈含量而改變。

三、多環芳香烴分析物的滯留行爲

本研究選擇環境上常見的 7 種多環芳香烴污染物，當分析物。圖 3 是以乙腈與水比例為 55 : 45 當移動相的層析條件，以自製 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相管柱分離 7 種多環芳香烴的層析圖。從圖 3 可知以自製鍵結靜相管柱能夠有效分離 7 種多環芳香烴，且接近基線分離。此種層析結果比利用化學鍵結苯矽膠靜相分離相同分析物的效果好[10]。若移動相中，乙腈與水比例為 45 : 55 時，可將 7 種分析物基線分離。在圖 3 中，7 種分析物的沖提次序大小：苯 < 萘 < 蒽 < 菲 < 蔥 < 芘 < 1,2-苯并蔥。從分析物分子結構與滯留時間關係得知：分析物分子結構的苯環數目愈多，則滯留時間愈長。例如，擁有一個苯環結構(如苯)的滯留時間最短，而擁有四個苯環結構(如 1,2-苯并蔥)的滯留時間最長。由此可推測：當分析物的苯環數目愈多，amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相的正十八烷胺部分與分析物之間的疏水性作用力及 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相之 s-triazine 環與分析物之芳香環之間的 π - π 作用力都會增大，使得滯留時間愈長。由此可知，amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相與分析物之間的疏水性作用力以及 π - π 作用力在滯留機轉上扮演重要的角色。

肆、結論

經由層析測試結果可證實 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相已製備成功。移動相中，乙腈與水在適當比例條件之下，能夠有效分離 7 種多環芳香烴；分析物的滯留因數會隨著乙腈含量增加而減少，而沖提次序不隨著乙腈含量而改變；從 7 種分析物的沖提次序結果，可推測 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相與分析物之間的疏水性作用力以及 π - π 作用力在滯留機轉上扮演重要的角色。

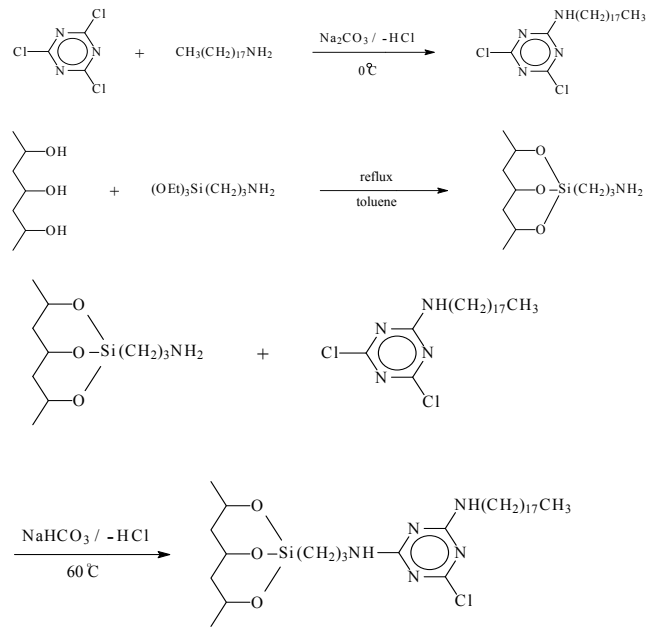


圖 1 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相的合成步驟及可能的結構。

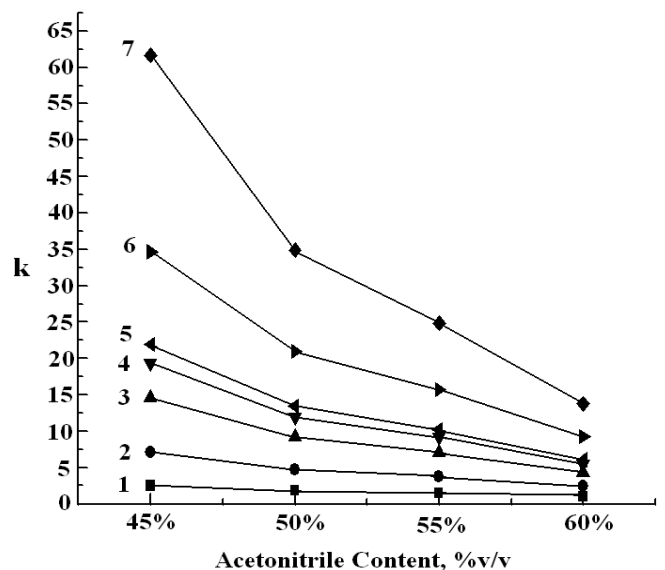


圖 2 以 amine-s-triazine- C_{18} 鍵結靜相管柱分離 7 種多環芳香烴的滯留因數與乙腈含量關係圖。每條曲線各代表 1 種分析物。1：苯；2：萘；3：蒽；4：菲；5：蔥；6：芘；7：1,2-苯并蔥。



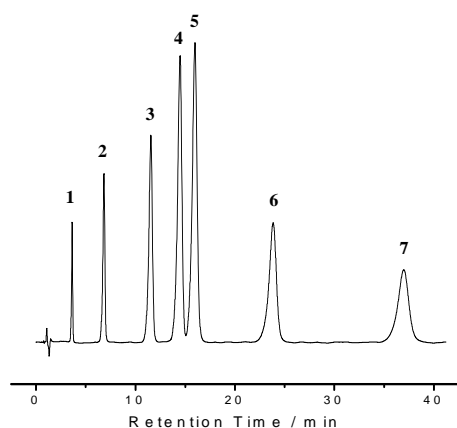


圖 3 以乙腈與水比例為 55 : 45 混合溶液當移動相，利用 amine-s-triazine-C₁₈ 鍵結靜相管柱分離 7 種多環芳香烴。流速：1.5 mL/min；波長設定在 254 nm；波峰指認：1：苯；2：萘；3：葑；4：菲；5：蔥；6：芘；7：1,2-苯并蔥。

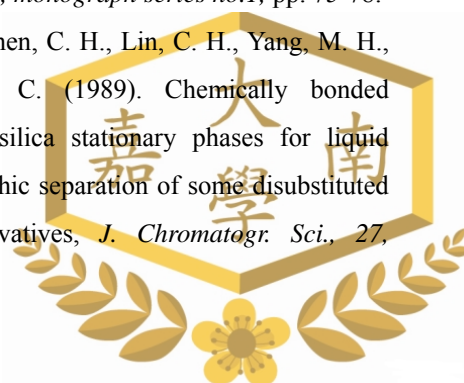
謝辭

感謝行政院國家科學委員會提供專題計畫經費的補助；輔英科技大學應用化學及材料科學系提供儀器設備及研究相關的協助。

參考文獻

1. 香港特別行政區政府食物環境衛生署(2004)。化學物危害評估燒烤肉類含多環芳香族碳氫化合物。香港特別行政區政府食物環境衛生署風險評估研究第十四號報告書。
2. 蔡宜雅(2006)。多環芳香烴對人類肺腺癌細胞株纖維母細胞生長因子 9 之誘導作用。未發表的碩士論文，台北：國立台灣大學毒理學研究所。
3. 行政院環境保護署(2007)。多環芳香族碳氫化合物檢測方法—氣相層析法。中華民國 86 年 8 月 5 日(86)環署檢字第 41710 號公告。
4. 行政院環境保護署(2007)。多環芳香族碳氫化合物檢測方法—液相層析法。中華民國 86 年 8 月 5 日(86)環署檢字第 41711 號公告。
5. 樊至侃(1985)。烷化及芳化液相層析填充材料之新製備方法。未發表的碩士論文，台北：國立台灣大學化學研究所。

6. 魏麗梅(1987)。三聚氰酸—烷化修飾靜相之製備及其層析應用。未發表的碩士論文，台北：國立台灣大學化學研究所。
7. Method 500.1, (1990). environmental monitoring system laboratory, *US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH*, pp. 143-167.
8. Method 8310, (1986). Test methods for evaluation of solid waste: physical and chemical methods, SW-846, *US Environmental Protection Agency, Washington, DC*, pp. 1-13
9. Method 610, (1992). Test methods: methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater, *US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH*, pp.441-454.
10. Chen, I. L., Wu, D. H., & Yang, M. H. (1996). Chemically bonded phenylsilicone stationary phases for the liquid chromatographic separation of polycyclic aromatic hydrocarbons and cyclosiloxanes. *J. Chromatogr. A*, 722, 97-105.
11. Hesselink, W., Schiffer, N. A., & Kootstra, P. R. (1995). Separation of polycyclic aromatic hydrocarbons on a wide-pore polymeric C₁₈ bonded phase. *J. Chromatogr. A*, 697, 165-174.
12. Chang, C. S., Tsai, H. J., & Den, T. G. (1998). "Sock-Ball" chromatographic separation of some polycyclic aromatic hydrocarbons with C₆₀-fullerene stationary phase. *J. Chin. Chem. Soc.*, 45, 411-415.
13. Yang, M. H., Lin, C. E., & Fan, J. K. (1986). A highly selective modified C₁₈ column for the separation of aromatic hydrocarbons, silicon material research program. *National Science Council, ROC, monograph series no.1*, pp. 75-78.
14. Lin, C. E., Chen, C. H., Lin, C. H., Yang, M. H., & Jiang, J. C. (1989). Chemically bonded cyclodextrin silica stationary phases for liquid chromatographic separation of some disubstituted benzene derivatives, *J. Chromatogr. Sci.*, 27, 665-671.



15. Lin, C. H., Chen, C. Y., Chang, S. W., Wu, J. C. & Lin, C. E. (2006), Use of β -Cyclodextrin bonded phase with s-triazine moiety in the spacer for separation of aromatic carboxylic acid isomers by high-performance liquid chromatography, *Anal. Chim. Acta*, 576, 84-90.
16. Lin, C. H., Chen, C. Y., Chang, S. W., Wu, J. C., & Lin, C. E. (2008), Separation of aromatic carboxylic acid isomers by HPLC using β -cyclodextrin bonded phase with diamino-s-triazine moiety, *J. Chin. Chem. Soc.*, 55, 1367-1372.
17. Lin, C. E., & Lin, C. H. (1994). Enantiomer separation of amino acids on a chiral stationary phase derived from L-alanyl- and pyrrolidinyl-disubstituted cyanuric chloride. *J. Chromatogr. A*, 676, 303-309.
18. Lin, C. E., Lin, C. H., & Li, F. K. (1996). Enantioseparation of amino acids and amino alcohols on a chiral stationary phase derived from α -amino acid- and pyrrolidinyl-disubstituted cyanuric chloride. *J. Chromatogr. A*, 722, 189-198.



Use of Amine-s-triazine-C₁₈ Bonded Phase for the Separation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by HPLC

Li Fang Liao¹ Chau Chen Yang² Shu Wen Chang¹ Jong Chang Wu¹ Chen Hsing Lin^{1*}

¹Department of Applied Chemistry and Material Science, Fooyin University,
Ta-Liao, Kaohsiung, Taiwan 83102, R. O. C.

²Institute of Cosmetic Science,
Chia-Nan University of Pharmacy and Science,
Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Abstract

The amine-s-triazine-C₁₈ bonded phase was prepared for the separation of polycyclic aromatic hydrocarbons. The separation and retention behavior of seven polycyclic aromatic hydrocarbons was investigated in HPLC using Amine-s-triazine-C₁₈ bonded phase. Effective separations of the seven polycyclic aromatic hydrocarbons were achieved using acetonitrile-water (55:45, v/v) in mobile phase. Chromatographic results indicate that π - π interaction and hydrophobic interaction between the bonded phase and analytes play significant roles in the retention mechanism.

Key words: High-Performance Liquid Chromatography; Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; s-Triazine

*Correspondence: Department of Applied Chemistry and Material Science, Fooyin University, Ta-Liao, Kaohsiung, Taiwan 83102, R.O.C.

Tel: +886-7-7811151ext5511

Fax: +886-7-7826732

E-mail: sc030@mail.fy.edu.tw

